

**METIL EUGENOL, KHEMOTIPE DARIMINYAK ATSIRI *Melaleuca* spp.
(MYRTACEAE) YANG TUMBUH DIKEBUN RAYA CIBODAS
[Methyl Eugenol, Chemotype of Essential Oils of *Melaleuca* spp. (Myrtaceae)
Growing in Cibodas Botanical Garden]**

Tri Murningsih, Chairul dan Emma Sri Kuncari

Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi-LIPI

Cibinong Science Center-Jl. Raya Jakarta-Bogor Km 46, Cibinong 16911

e-mail: herbogor@indo.net.id

ABSTRACT

The essential oils of the fresh leaves of *Melaleuca* spp. (*M. alternifolia* Cheel, *M. ericifolia* Sm., *M. squarrosa* Donn, and *M. genistifolia* Sm.) from Cibodas Botanical Garden, Indonesia were isolated by a hydrodistillation method and analysed by a gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) technique. The various *Melaleuca* species showed differences within their relative essential oil compositions. The oils from all samples were of the methyl eugenol (10.30-71.25%) chemotype. The others major constituent were terpinen-4-ol (38.49%), linalool (19.65%) and bis(2-ethylhexyl)phtalate (66.09%) in the *M. alternifolia*, *M. ericifolia*, and *M. genistifolia* respectively.

Kata kunci: *Melaleuca* spp., Myrtaceae, Minyak atsiri, Metil eugenol

PENDAHULUAN

Terdapat lebih dari 200 jenis tumbuhan dalam genus *Melaleuca* (Myrtaceae). Hampir semua jenis tumbuhan tersebut dapat ditemukan di Benua Australia, bahkan sebagian besar merupakan endemik dari Benua ini. Tujuh jenis diantaranya dilaporkan endemik di Kaledonia Baru. Selain di daerah asalnya beberapa jenis *Melaleuca* ditemukan di beberapa negara tetangga seperti Malaysia, Indonesia, Papua Nugini, Tasmania, Selandia Baru, Kepulauan Solomon dan lainnya. Pada umumnya tumbuhan dalam genus ini tumbuh liar di hutan-hutan terbuka atau di semak belukar khususnya di sepanjang aliran anak-anak sungai dan di tepi-tepi danau (Anonim, 2010).

Beberapa jenis dari genus ini mempunyai peranan penting sebagai penghasil minyak atsiri, salah satunya adalah *M. alternifolia* atau yang dikenal dengan nama "tea tree". Minyaknya mempunyai beberapa aktivitas biologi diantaranya sebagai anti-jamur, antibiotik, antiinflamasi, antiviral serta dapat menghambat pertumbuhan sel "melanoma" (Mondello *et al.*, 2006; Terzi *et al.*, 2007; Banes-Marshall *et al.*, 2001; Kwiecinski *et al.*, 2009; Caldefie-Che"zet *et al.*, 2006; Garozzo *et al.*, 2009; Calcabrini *et al.*, 2004). Jenis lainnya adalah *M. ericifolia* Smith atau "swamp paperbark". Data penelitian yang telah ada menyebutkan minyak ini mempunyai aktivitas biologi

sebagai antibakteri dan antivirus (Farang *et al.*, 2004). Sedangkan informasi mengenai kandungan minyak maupun aktivitas biologi dari *M. squarrosa* Donn yang mempunyai nama lain "Scented paperbark" dan *M. genistifolia* Smith yang dikenal dengan sebutan "Paperbark tea tree" belum ditemukan.

Empat jenis *Melaleuca* (*M. alternifolia* Cheel, *M. ericifolia* Sm., *M. squarrosa* Donn dan *M. genistifolia* Sm.) ini adalah tumbuhan asli Australia yang diintroduksi ke Indonesia dan telah lama beradaptasi dengan lingkungan tumbuhnya di Kebun Raya Cibodas, Jawa Barat (Anonim, 2000). Perbedaan kondisi lingkungan tempat tumbuh dapat mempengaruhi biosintesis senyawa metabolit sekunder (Bruneton *et al.*, 1995; Rosman *et al.*, 2004), sehingga diperkirakan akan terdapat perbedaan komponen minyak atsiri pada 4 jenis *Melaleuca* yang tumbuh di Indonesia dengan yang tumbuh di Australia. Penelitian ini bertujuan membandingkan komponen minyak atsiri 4 jenis *Melaleuca* yang tumbuh di Indonesia dengan yang tumbuh di Australia,

BAHATANMETODA

Bahan

Bahan penelitian berupa daun segar dari 4 jenis *Melaleuca* yaitu *M. alternifolia* Cheel., *M. ericifolia* Sm., *M. squarrosa* Donn. dan *M. genistifolia* Sm. yang

dipetik dari Kebun Raya Cibodas. Keempat jenis tumbuhan ini berasal dari Australia. Determinasi tumbuhan dilakukan di Herbarium Bogoriense, Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi LIPI. Bahan kimia natrium sulfat (Na_2SO_4) anhidrat diperoleh dari Merck (Germany).

Distilasi

Masing masing jenis sampel (daun segar) dipotong kecil kecil (lebar 2 cm) kemudian didistilasi atau disuling menggunakan alat penyuling. Metode yang digunakan adalah distilasi air selama 3 4 jam. Hasil distilasi ditampung kemudian dibebas airkan dengan penambahan natrium sulfat (Na_2SO_4) anhidrat, hingga diperoleh minyak atsiri bebas air. Selanjutnya minyak dianalisis menggunakan metode gabungan antara Kromatografi Gas dan Spektrometri Massa (GC MS)

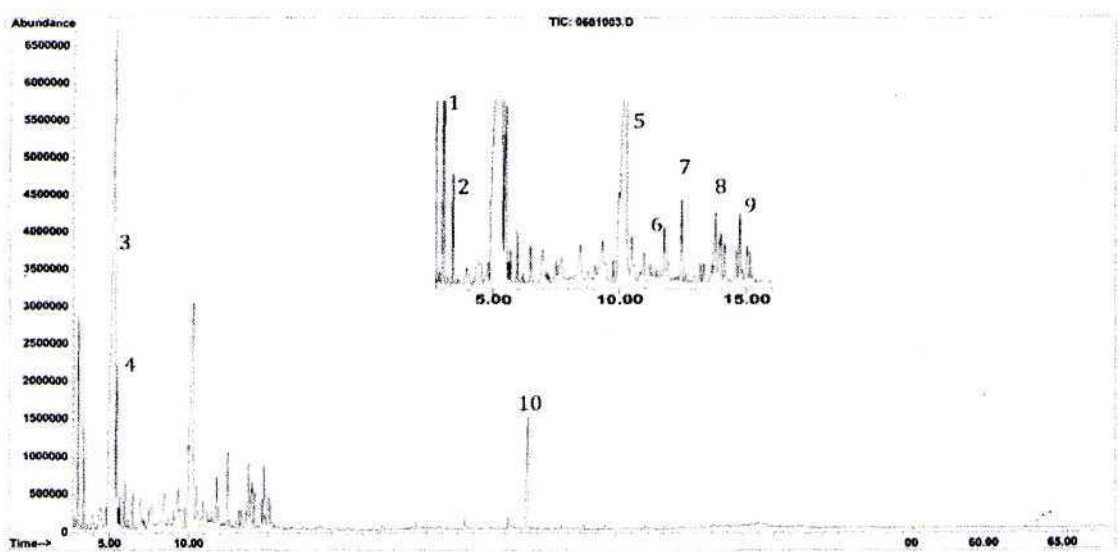
Analisis GC MS

Analisis minyak atsiri dilakukan dengan menggunakan peralatan / instrumen GC MS (Kromatografi Gas Agilent Technologies 6890 dan Mass Selective Detector 59873), menggunakan kolom kapiler HP ultra 2 (panjang 17 m, diameter 0.25 mm dengan ketebalan 0,25 μm), gas pembawanya adalah helium dengan kecepatan aliran gas dalam kolom 0,9 μl /menit. Suhu kolom diprogram dari 90°C sampai 280°C dengan 2 tahap kenaikan. Pada tahap awal suhu kolom dibuat konstan 90°C selama 1 menit, lalu dinaikkan

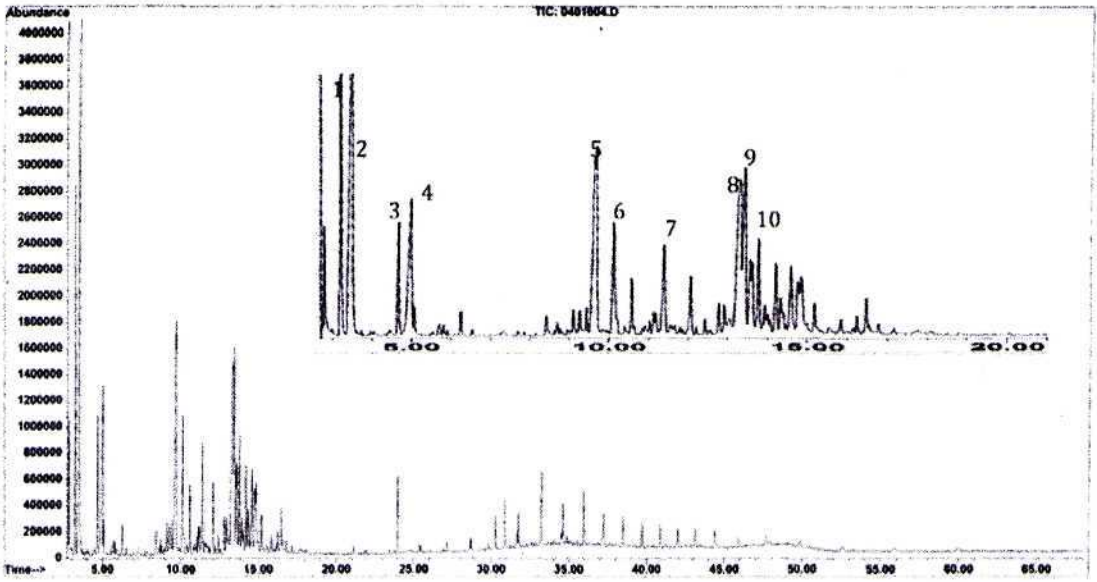
sampai 150°C dengan kecepatan kenaikan 5°C/menit. Pada 150°C suhu dipertahankan selama 3 menit dan selanjutnya dinaikkan menjadi 280°C dengan kecepatan 5°C/menit. Suhu injektor selama analisis berlangsung diprogram konstan pada suhu 250C, sedangkan suhu detektor (Electron Impact) konstan pada 280°C dengan energi 70 eV. Identifikasi kandungan senyawa minyak atsiri dilakukan dengan membandingkan pola fragmentasi spectra massa antara puncak puncak senyawa dari kromatogram GC MS dengan data Wiley 229 dan NIST 62. Persentase komponen yang diperoleh merupakan persentase relatif.

HASIL

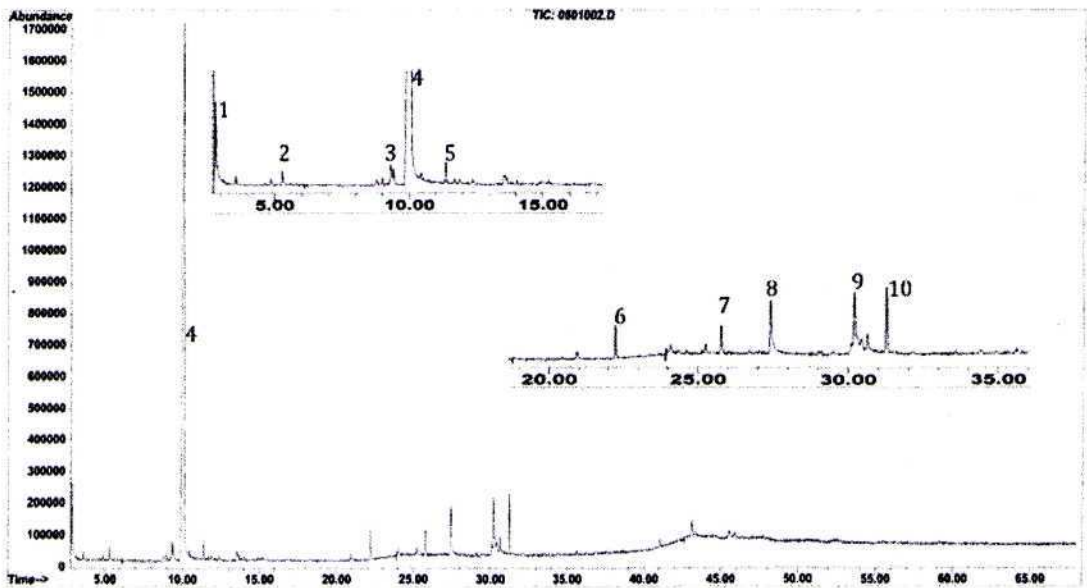
Minyak atsiri yang diperoleh melalui proses distilasi dari daun empat jenis *Melaleuca* memiliki profil kromatogram berbeda beda. Profil kromatogram dari masing masing *M. alternifolia*, *M. ericifolia*, *M. squarrosa* dan *M. genistifolia* memperlihatkan adanya lebih dari 10 puncak senyawa (Gambar 1,2, 3 dan 4). Hasil analisis GC MS dari 10 puncak senyawa dengan luas puncak tertinggi pada *M. alternifolia* adalah terpinen 4 ol (38,49%), metil eugenol (16,42%), p fensil alkohol (4,32%), terpinena (4,04%), asam ftalat (3,89%), globulol (1,96%), 5 kadinena (1,72%), eudesmol(1,42%),ledena(1,27%),terpinolena(1,21%); sedangkan pada *M. ericifolia* adalah linalool (19,65%),



Gambar 1. Kromatogram GC MS minyak atsiri *M. alternifolia*



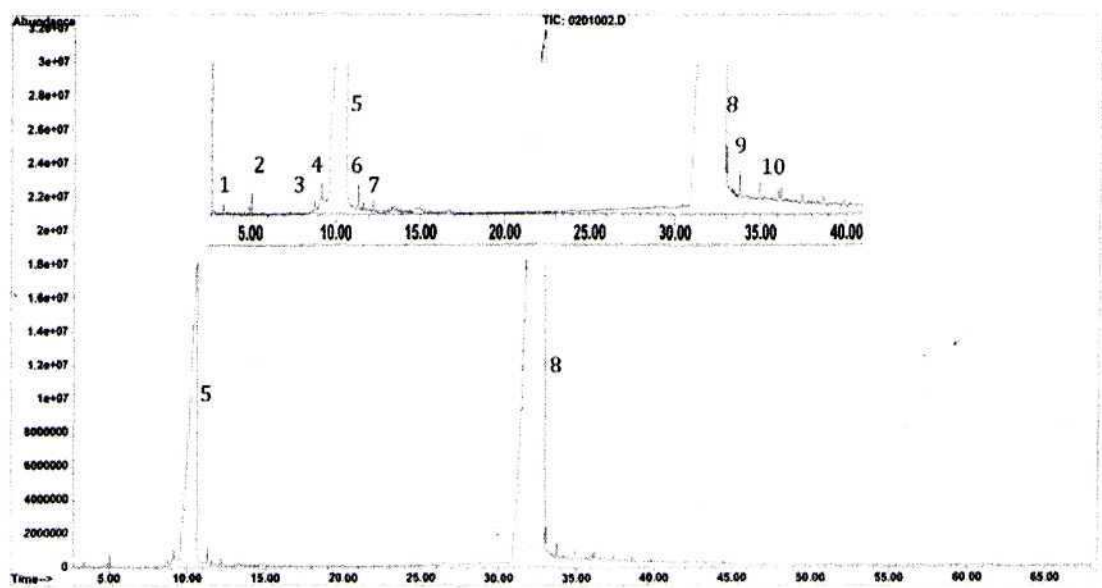
Gambar 2. Kromatogram GC-MS minyak atsiri *M. ericifolia*



Gambar 3. Kromatogram GC MS minyak atsiri *M. squarrosa*

spatulenol (10,52%), metil eugenol (10,30%), globulol (6,64%), fensil alkohol (6,09%), terpinolen (6,02%), alloaromadendrena (4,19%), germakrena B (3,16%), isopulegol (2,88%), P selenina (2,87%); pada *M. squarrosa* adalah metil eugenol (71,25%), asam heksadekanoat (3,55%), dioktil ftalat (3,05%), *trans* oksimen (2,34%), etil heksanoat (1,67%), etil

oktadekanoat (1,41%), 9,12,15 oktadekatrienal (1,27%), metil sinamat (1,23%), germakrena D (1,01%), *trans* anetol (0,73%); pada *M. genitifolia* adalah bis(2 etilheksil) ftalat (66,09%), metil eugenol (19,95%), germakrena D (0,24%), metil sinamat (0,22%), a kopaena (0,16%), heptakosana (0,11%), trikosana (0,09%), metil kavikol (0,07%), linalool (0,02%) (Tabel 1).



Gambar 4. Kromatogram GC-MS minyak atsiri *M. genistifolia*

Berdasarkan perbedaan rumus molekul dan struktur kimianya, komponen penyusun minyak atsiri dapat dikelompokkan menjadi beberapa kelompok seperti monoterpena, monoterpen teroksigenasi, seskiterpena, seskiterpen teroksigenasi, turunan benzen, asam organik, ester alifatik, ester aromatik dan hidrokarbon alifatik. Kelompok-kelompok komponen dari minyak 4 jenis *Melaleuca* yang diteliti serta kadar dari masing-masing kelompok dapat dilihat pada tabel 2

PEMBAHASAN

Perbedaan profil kromatogram GC-MS yang terjadi pada minyak atsiri dari keempat jenis *Melaleuca* (*M. alternifolia*, *M. ericifolia*, *M. squarrosa* dan *M. genistifolia*) mengindikasikan adanya perbedaan komposisi kimia antar jenis tumbuhan yang satu dengan lainnya. Secara keseluruhan komponen penyusun minyak tersebut terdiri dari senyawa monoterpena (C₁₀), seskiterpena (C₁₅), turunan benzen seperti metil eugenol (C₁₁), asam organik, ester alifatik, ester aromatik dan hidrokarbon alifatik (Tabel 1 dan 2). Komponen kimia minyak *M. alternifolia* dari Australia hanya terdiri dari 3 kelompok yaitu monoterpena, monoterpen teroksigenasi dan seskiterpena, sedangkan yang berasal dari Kebun Raya Cibodas lebih bervariasi (Tabel 3). Demikian pula komponen kimia minyak *M.*

ericifolia mempunyai kecenderungan yang sama (Tabel 4).

Perbandingan komponen minyak *M. alternifolia* dari Kebun Raya Cibodas dan Australia memperlihatkan adanya beberapa persamaan, diantaranya adalah kedua minyak tersebut mengandung senyawa terpinen-4-ol dengan kadar tertinggi. Akan tetapi terdapat pula perbedaan diantaranya kandungan senyawa metil eugenol dengan kadar cukup tinggi hanya terdapat pada minyak dari Cibodas (Tabel 5).

Minyak atsiri *M. ericifolia* dari New South Wales mempunyai dua komponen utama berbeda, dari bagian utara mengandung komponen utama linalool (43,40%) dan dari bagian selatan kaya akan senyawa 1,8-sineol (Ron Guba, 2003). Sedangkan minyak dari Kebun Raya Cibodas mempunyai kemiripan dengan minyak dari New South Wales utara, mengandung linalool (19,65%) sebagai komponen utama. Namun demikian adanya kandungan metil eugenol (10,30%) memberikan suatu perbedaan(Tabel 6).

Minyak *M. squarrosa* mengandung senyawa metil eugenol dengan kadar tinggi (71,25%), sedangkan minyak *M. genistifolia* didominasi oleh senyawa ester hidrokarbon siklik yaitu bis(2-etilheksil) ftalat (66,09%), diikuti metil eugenol (19,95%). Sejauh ini belum

Tabel 1. Daftar sepuluh komponen utama dari minyak atsiri *M. alternifolia*, *M. ericifolia*, *M. squarrosa*, dan *M. genistifolia*

No.	Wnktu retensi	Kndar (%)	Rumus molekul	Nama komponen kimia			
				<i>M. alternifolia</i>	<i>M. ericifolia</i>	<i>M. squarrosa</i>	<i>M. genistifolia</i>
1	3,03	4,04	C ₁₀ H ₁₆	γ-Terpinena			
2	3,39	1,21	C ₁₅ H ₂₄	Terpinolena			
3	5,37	38,49	C ₁₀ H ₁₈ O	Terpinen-4-ol			
4	5,51	4,32	C ₁₁ H ₁₈ O	G-Fensill alkohol			
5	10,29	16,42	C ₁₁ H ₁₈ O ₂	Metil eusenol			
6	11,77	1,27	C ₁₃ H ₂₄	Ledena			
7	12,42	1,72	C ₁₅ H ₂₄	5-kadinena			
8	13,79	1,96	C ₁₅ H ₂₆ O	Globulol			
9	13,99	1,42	C ₁₅ H ₂₆ O	Eudesmol			
10	31,41	3,89	C ₈ H ₈ O ₄	Asam ftalat			
1	3,23	6,02	C ₁₀ H ₁₆		Terpinolena		
2	3,53	19,65	C ₁₀ H ₁₈ O		Linalool		
3	4,69	2,88	C ₁₁ H ₁₈ O		IsopuleRol		
4	5,01	6,09	C ₁₁ H ₁₈ O		p-Fensil alkohol		
5	9,70	10,30	C ₁₁ H ₁₈ O ₂		Metil eugenol		
6	10,15	4,19	C ₁₅ H ₂₄		Alloaroniadendrene		
7	11,42	3,16	C ₁₅ H ₂₄		Germacrene B		
8	13,33	10,52	C ₁₅ H ₂₄ O		Spathulenol		
9	13,46	6,64	C ₁₅ H ₂₆ O		Globulol		
10	13,79	2,87	C ₁₅ H ₂₄		p-Selinena		
1	2,82	2,34	C ₁₁ H ₁₈			/ra».v-{-Oksimena	
2	5,30	0,73	C ₁₀ H ₁₈ O			frans-Anetol	
3	9,31	1,23	C ₁₀ H ₁₆ O ₂			Metil sinamat	
4	10,08	71,25	C ₁₁ H ₁₈ O ₂			Metil eugenol	
5	11,37	1,01	C ₁₅ H ₂₄			Germacrene D	
6	22,23	1,67	C ₁₅ H ₂₆ O ₂			Etil heksadekanoat	
7	25,79	1,41	C ₂₀ H ₄₀ O ₂			Etil oktadekanoat	
8	27,44	3,55	C ₁₆ H ₃₂ O ₂			Asam heksadekanoat	
9	30,44	1,27	C ₁₈ H ₃₄ O			9,12,15-Oktadekatrienal	
ro	31,06	3,05	C ₈ H ₈ O ₄			Dioktil ftalat	
1	3,38	0,02	C ₁₀ H ₁₈ O				Linalool
2	5,06	0,07	C ₁₁ H ₁₈ O				Metil kavikol
3	8,72	0,16	C ₁₃ H ₂₄				a-Kopaena
4	9,47	0,22	C ₁₀ H ₁₀ O ₂				Metil sinamat
5	10,59	19,95	C ₁₁ H ₁₈ O ₂				Metil eugenol
6	11,30	0,24	C ₁₅ H ₂₄				Germacrene-D
7	12,19	0,04	C ₁₃ H ₂₄				3-Kadinena
8	32,76	66,09	C ₂₄ H ₄₈ O				Bis(2-etilheksil) ftalat
9	33,78	0,11	C ₂₇ H ₅₄				Heptakosana
10	34,95	0,09	C ₂₇ H ₅₄				Trikosana

Keterangan : persentase komponen merupakan persentase relatif yang dihitung berdasarkan luas puncak

ditemukan informasi mengenai komposisi minyak dari kedua jenis *Melaleuca* ini untuk dijadikan pembandingan. Kenyataan memperlihatkan adanya kecenderungan pembentukan senyawa metil eugenol (C₁₁H₁₈O₂) pada empat jenis *Melaleuca* dari Cibodas. Di daerah asalnya (Australia) tidak mengandung metil eugenol seperti pada *M. alternifolia* dan *M. ericifolia* yang tumbuh di Kebun Raya Cibodas. Perbedaan tersebut diperkirakan oleh karena perbedaan kondisi lingkungan seperti suhu udara, pencahayaan (intensitas sinar matahari), lama pencahayaan, dan ketinggian tempat tumbuh yang akan mempengaruhi

proses biosintesis menghasilkan komponen kimia sebagai produknya (Bruneton *et al.*, 1995; Rosmane/*al.*, 2004). Hal ini merupakan penyebab terbentuknya metil eugenol. Proses biosintesis atau proses pembentukan senyawa metil eugenol berbeda dengan senyawa monoterpena dan seskiterpena. Metil eugenol terbentuk melalui jalur asam sikimat menghasilkan fenilalanin sebagai prekursor. Selanjutnya ada beberapa tahapan reaksi yang harus dilalui hingga terbentuk eugenol. Dengan adanya pendonor metil dari S-adenosylmethionine (SAM) dan aktivitas enzim O-methyltransferase (OMT), senyawa eugenol berubah

Tabel 2. Daftar kelompok komponen kimia dari minyak *M. alternifolia*, *M. ericifolia*, *M. squarrosa*, dan *M. genistifolia*

No.	Kelompok komponen kimia	Kadar (%)			
		<i>M. alternifolia</i>	<i>M. ericifolia</i>	<i>M. squarrosa</i>	<i>M. genistifolia</i>
1	Monoterpena	5,25	6,02	2,34	-
2	Monoterpen teroksigenasi	42,81	28,62	0,73	0,09
3	Seskiterpena	2,99	10,22	1,01	0,44
4	Seskiterpen teroksigenasi	3,38	17,16	-	-
5	Turunan benzena	20,31	10,52	71,25	20,17
6	Asam organik	3,89	-	-	-
7	Ester alifatik	-	-	3,08	-
8	Ester aromatik	-	-	3,05	66,09
9	Hidrokarbon alifatik	-	-	1,27	0,20

Sumber : Data penelitian, Carson *et al.*, (2006)

Tabel 3. Perbandingan kelompok komponen kimia minyak *M. alternifolia* dari Kebun Raya Cibodas dan Australia

No.	Kelompok komponen kimia	<i>M. alternifolia</i>	
		Kebun Raya Cibodas (%)	Australia (%)
1	Monoterpena	5,25	42,00
2	Monoterpen teroksigenasi	42,81	47,60
3	Seskiterpena	2,99	2,80
4	Seskiterpen teroksigenasi	3,38	-
5	Turunan benzena	20,31	-
6	Asam organik	3,89	-

Sumber : Data penelitian, Carson *et al.*, (2006)

Tabel 4. Perbandingan kelompok komponen kimia minyak *M. ericifolia* dari Kebun Raya Cibodas dan Australia

No.	Kelompok komponen kimia	<i>M. ericifolia</i>	
		Kebun Raya Cibodas (%)	Australia (%)
1	Monoteroena	6,02	10,10
2	Monoterpen teroksigenasi	28,62	73,50
3	Seskiterpena	10,22	3,90
4	Seskiterpen teroksigenasi	17,16	-
5	Turunan benzena	10,52	-

Sumber: Data penelitian, Ron Quba, (2003)

Tabel 5. Daftar sepuluh komponen utama dari minyak atsiri *M. alternifolia* asal Kebun Raya Cibodas dan Australia:

No.	Nama komponen	Minyak <i>M. alternifolia</i>	
		Kebun Raya Cibodas (%)	Australia (%)
1	Terpinen-4-ol	38,49	40,10
2	Metil eugenol	16,42	-
3	p-Fensil alkohol	4,32	-
4	y-Terpinena	4,04	23,0
5	a-Terpinena	-	10,40
6	Asam ftalat	3,89	-
7	Globulol	1,96	-
8	5-Kadinena	1,72	1,30
9	Eudesmol	1,42	-
10	Ledena	1,27	-
11	Terpinolena	1,21	3,10
12	1,8-Sineol	-	5,1
13	p-Simena	-	2,90
14	a-Pinena	-	2,60
15	a-Terpineol	-	2,4
16	Aromadendrena	-	1,50

Sumber : Data penelitian, Carson *et al.*, (2006)

menjadi metil eugenol (Torseli, 1983; Gang *et al.*, 2002). Sedangkan senyawa monoterpena dan seskiterpena terbentuk dari asam asetat melalui jalur biosintesis asam mevalonat. Kondensasi isopentenil difosfat (IPP) dan dimetilallil difosfat (DMAPP) akan membentuk geranil

difosfat (GPP) dan farnesil difosfat (FPP). Senyawa-senyawa ini merupakan prekursor dari monoterpena dan seskiterpena dengan melibatkan enzim-enzim prenyltransferase. Langkah selanjutnya adalah konversi dari beberapa prenil difosfat, GPP (C₁₀) dan

Tabel 6. Daftar sepuluh komponen utama dari minyak atsiri *M. ericifolia* asal Kebun Raya Cibodas dan New South Wales Australia.

No.	Nama komponen	Minyak <i>M. ericifolia</i>	
		Kebun Raya Cibodas (%)	New South Wales, utara (%)
1	Linalool	19,65	43,40
2	Spatulenol	10,52	-
3	Metil eugenol	10,30	- -
4	Globulol	6,64	-
5	P-Fensil alkohol	6,09	-
6	Terpinolen	6,02	-
7	Alloaromadendren	4,19	2,80
8	Germakrena B	3,16	-
9	Isopulegol	2,88	-
10	P-Selinena	2,87	-
11	1,8-Sineol	-	25,60
12	a-Pinena	-	5,40
13	Terpineol	-	3,70
14	Limonena	-	3,10
15	p-Simena	-	1,60
16	Aromadendrena	-	1,10
17	Terpinen-4-ol	-	0,80

Sumber : Data penelitian, Ron Guba, 2003.

FPP (C₁₅) yang berturut-turut membentuk senyawa monoterpena dan seskiterpena. Reaksi-reaksi pada langkah ini terjadi oleh adanya enzim-enzim yang disebut terpene synthase dan menghasilkan komponen kimia dengan tipe kerangka tertentu yang menjadi ciri jenis-jenis komponen sebagai hasil akhir (Dudareva *et al.*, 2004). Karena perbedaan kondisi lingkungan yang telah disebutkan diatas menyebabkan metil eugenol hanya terbentuk pada minyak dari Kebun Raya Cibodas, sehingga dapat dikatakan bahwa metil eugenol merupakan khemotipe dari minyak atsiri *Melaleuca* spp. (*M. alternifolia*, *M. ericifolia*, *M. squarrosa* dan *M. genistifolia*) yang tumbuh di Kebun Raya Cibodas.

KESIMPULAN

Kondisi lingkungan tempat tumbuh akan mempengaruhi pola biosintesis metabolit sekunder. Beberapa jenis tumbuhan *Melaleuca* dari daerah asal

Australia tidak mengandung metil eugenol, tetapi setelah diintroduksi dan beradaptasi cukup lama di Kebun Raya Cibodas terbentuk metil eugenol sebagai komponen penyusun minyaknya. Senyawa metil eugenol dapat diasumsikan merupakan khemotipe dari minyak atsiri daun *M. alternifolia*, *M. ericifolia*, *M. squarrosa* dan *M. genistifolia* yang tumbuh di Kebun Raya Cibodas. Kandungan metil eugenol bervariasi *M. squarrosa* (71,25%) diikuti oleh *M. genistifolia* (19,95%), *M. alternifolia* (16,42 %) dan *M. ericifolia* (10,30%).

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Pimpinan Pusat Konservasi Tumbuhan dan Kebun Raya Cibodas yang telah memberikan ijin penggunaan daun dari beberapa jenis *Melaleuca* sebagai sampel dalam penelitian ini.

DAFTARPUSTAKA

- Anonim. 2000.** An alphabetical list of plant species cultivated in the Cibodas Botanical Garden. *Republik of Indonesia, Indonesian Institute of Sciences, Botanic Gardens of Indonesia*, 46.
- Annonim. 2010.** *Melaleuca*. Retrieved from <http://en.wikipedia.org/wiki/Melaleuca>
- Banes-Marshall L, Cawley P, Phillips CA. 2001.** *In-vitro* activity of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil against bacterial and *Candida* spp. Isolated from clinical specimens. *Br J Biomed Sci.* **58(3)**, 139-145.
- Bruneton J. 1995.** *Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants*, 405-466.. Lavoisier Publ. Londres, New York, Paris.
- Calcabrini A, Stringaro A, Toccaceli L, Meschini S, Marra M, Colone M, Salvatore G, Mondello F, Arancia G, Molinari A. 2004.** Terpinen-4-ol, the main component of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil inhibits the *in-vitro* growth of human melanoma cells. *J Invest Dermatol.* **122(2)**, 349-360.
- Caldefie-Chézet F, Fusillier C, Jarde T, Laroye H, Damez M, Vasson MP, Guillot J. 2006.** Potential anti-inflammatory effects of *Melaleuca alternifolia* essential oil on human peripheral blood leukocyte. *Phytother Res.* **20(5)**, 364-370.
- Carson CF, Hammer KA, Riley TV. 2006.** *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) oil : a Review of antimicrobial and other medicinal properties. *Clinical Microbiol Review.* **19(1)**, 50-62.
- Dudareva N, E Pichersky and J Gershenzon. 2004.** Biochemistry of plant volatile. *Plant Physiology* **135**, 1893-1902.
- Farag RS, Shalaby AS, El-Baroty GA, Ibrahim NA, Ali MA, Hassan EM. 2004.** Chemical and biological evaluation of the essential oils of different *Melaleuca* species. *Phytother. Res.* **18(1)**, 30-35.
- Gang DR, Lavid N, Zubieta C, Chen F, Beuerie T, Lewinsohn E, Noel JP and Pichersky E. 2002.** Characterization of phenylpropene O-methyl transferases from Sweet Basil: Facile change of substrate specificity and convergent evolution within a plant O-methyltransferase family. *The Plant Cell.* **14**, 505-519.
- Garozzo A, Timpanaro R, Bisignano B, Furneri PM, Bisignano G, Castro A. 2009.** *In-vitro* antiviral activity of *Melaleuca alternifolia* essential oil. *Lett Appl Microbiol.* (In press)
- Kwiecinski J, Eick S, Wójcik K. 2009.** Effect of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil on *Staphylococcus aureus* in biofilms and stationary growth phase. *Int. J Antimicrob Agents*, **33(4)**, 343-347.
- Mondello F, De Bernardis F, Girolamo A, Cassone A, Salvatore G. 2006.** *In-vivo* activity of terpinen-4-ol, the main bioactive component of *Melaleuca alternifolia* Cheel (tea tree) oil against azole-susceptible and-resistant human pathogenic *Candida* species. *BMC Infect Dis.* **3(6)**, 158-163.
- Ron Guba. 2003.** Essential therapeutics the ultimate practitioner range. *Essential J* **13**
- Rosman R, SS Harjadi, S Sudianto, S Yahya, BS Purwoko dan Chairul. 2004.** Pengaruh periode pencahayaan terhadap pertumbuhan, hasil dan komponen minyak tanaman mentha (*Mentha piperita* L.). *Jurnal Penelitian Tanaman Industri* **10(1)**, 12-20.
- Terzi V, Morcia C, Faccioli P, Valè G, Tacconi G, Malnati M. 2007.** *In-vitro* antifungal activity of the tea tree (*Melaleuca alternifolia*) essential oil and its major components against plant pathogens. *Lett Appl Microbiol.* **44(6)**, 613-618.
- Torrsell KGB. 1983.** Natural Product Chemistry, a mechanistic and biosynthetic approach to secondary metabolism. *John Willey & Sons limited, Chichester. New York*, 58-64.